PCT WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro

INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation 7 :		(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 00/45857
A61K 51/00	A2	(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 10. August 2000 (10.08.00)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP00/00473

(22) Internationales Anmeldedatum: 21. Januar 2000 (21.01.00)

(30) Prioritätsdaten:
199 05 094.5 1. Februar 1999 (01.02.99) DE

(71) Anmelder: SCHERING AKTIENGESELLSCHAFT [DE/DE]; Müllerstrasse 178, D–13342 Berlin (DE).

(72) Erfinder: LAWACZECK, Rüdiger; Beyschlagstrasse 8c, D–13503 Berlin (DE). PLATZEK, Johannes; Grottkauer Strasse 55, D–12621 Berlin (DE). RADÜCHEL, Bernd; Gollanczstrasse 132, D–13465 Berlin (DE).

(81) Bestimmungsstaaten: AE, AL, AU, BA, BB, BG, BR, CA, CN, CR, CU, CZ, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KP, KR, LC, LK, LR, LS, LT, LV, MA, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, SD, SG, SI, SK, SL, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VN, YU, ZA, ZW, eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).

Veröffentlicht
Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.

(54) Title: METAL MACROCYCLES FOR TWO–STEP FORMS OF RADIOTHERAPY

(54) Bezeichnung: METALLMAKROZYKLEN FÜR ZWEISCHRITT–STRAHLENTHERAPIEFORMEN

(57) Abstract

The invention relates to the use of at least one physiologically compatible compound of general formula (I), wherein U represents $-CH_2-CH(OH)-CH_2-$ or $-CHR-CO-NH-(CH_2)_n-CO$, with R meaning a hydrogen atom or a methyl group and n meaning the numbers 1 to 10, and T represents a tumour–specific radical of biological or synthetic origin, for producing preparations for neutron capture and photon activation therapy.

(57) Zusammenfassung

Es wird die Verwendung von mindestens einer physiologisch verträglichen Verbindung der allgemeinen Formel (I), worin U für $-CH_2-CH(OH)-CH_2-$ oder $-CHR-CO-NH-(CH_2)_n-CO$ mit R in der Bedeutung eines Wasserstoffatoms oder einer Methylgruppe und n in der Bedeutung der Ziffern 1 bis 10, und T für einen tumorspezifischen Rest biologischen oder synthetischen Ursprungs stehen, für die Herstellung von Präparaten für die Neutroneneinfang– und Photonenaktivierungstherapie beschrieben.

BEST AVAILABLE COPY

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidschan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland			TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	ML	Mali	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MN	Mongolei	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MR	Mauretanien	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MW	Malawi	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	MX	Mexiko		
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CG	Kongo	KE	Kenia	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CM	Kamerun			PL	Polen		
CN	China	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CU	Kuba	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CZ	Tschechische Republik	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
DE	Deutschland	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DK	Dänemark	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
EE	Estland	LR	Liberia	SG	Singapur		

Metallmakrozyklen für Zweischritt-Strahlentherapieformen

Die Neutronen-Einfang-Therapie (NET) ist eine Zweischritt-Therapie, die darin besteht, physiologisch verträgliche Substanzen in ein Zielgebiet einzutragen und dann im zweiten Schritt durch Aktivierung mit Neutronen in die Wirksubstanzen zu überführen. Der Vorteil dieser Therapapieform liegt darin, daß nur dort, wo die Substanz aktiviert wird, sich das Wirkprofil der Substanz entfaltet. Ohne den lokal steuerbaren Anschaltschritt bleibt die Substanz inaktiv. Ein ähnlicher Mechanismus gilt für die Photonenaktivierungstherapie (PAT).

Im Falle der Aktivierung durch Neutronen sind zwei Isotope durch besonders hohe Einfangquerschnitte für thermische Neutronen ausgezeichnet: dies sind ^{10}Bor und ^{157}Gadolinium, die mit natürlicher Häufigkeit von 20 % und 16 % vorkommen.
Im Fall der Photonenaktivierung werden Substanzen verwendet, die Elemente enthalten, die Röntgenstrahlen absorbieren können. Das sind Elemente mit höheren Ordnungszahlen, die über den photoelektrischen Effekt Röntgen-Photonen unter Aussendung von Auger-Elektronen oder Röntgenfluoreszenz-Photonen absorbieren.

Nach Neutroneneinfang zerfällt Bor in ein α-Teilchen und ^{7}Li, beide haben Reichweiten von weniger als 10 µm - also in der Größenordnung von Zelldurchmessern - so daß zur Ausbildung einer Zellschädigung der Borzerfall intrazellulär erfolgen sollte. ^{157}Gd wird nach Neutroneneinfang in ^{158}Gd überführt, zusätzlich werden eine γ-Strahlung und Konversions- sowie Augerelektronen freigesetzt. Die γ-Strahlung hat große Reichweiten, die Reichweite der Konversionselektronen liegt bei 50 - 70 µm, die über die Auger-Kaskade freigesetzten Elektronen haben nur kurze Reichweiten von wenigen nm. Während die γ-Strahlung und die Konversionselektronen zur eingetragenen

Dosis beitragen, kommt für Gd-Komplexe, die nicht unmittelbar in DNA Nähe plaziert sind, ein zellschädigender Effekt der Auger-Elektronen nicht zum Zuge.

Zur Entfaltung des vollen Wirkspektrums sollten die Gd-Komplexe wie auch die B-Substanzen intrazellulär aufgenommen sein und sich möglichst nahe der DNA, dem radiobiologischen Ziel, befinden.

Chemisch verhalten sich Bor und Gadolinium sehr unterschiedlich. Bor erlaubt die Ausbildung kovalenter Bindungen, Gadolinium liegt als komplexiertes Ion vor. Zahlreiche Borverbindungen sind bekannt und, weil es bei der Neutronen-Einfang-Therapie auf die Anzahl der Boratome ankommt, hat man für diesen Zweck eine Reihe von Borclustern entwickelt, die man in geeigneter Weise an biologische Moleküle, wie z.B. Porphyrine (BOPP) [LR Huang, RM Straubinger, SB Kahl, MS Koo, JJ Alletto, R Mazurchuk, RI Chau, SL Thamer, RJ Fiel. Boronated metalloporphyrins: a novel approach to the diagnosis and treatment of cancer using contrast-enhanced MR imaging and neutron capture therapy. JMRI 3: 315-356 (1993)]), koppeln kann. Befruchtend auf die Chemie der Lanthanidkomplexe hat die Tatsache gewirkt, daß aufgrund der magnetischen Eigenschaften insbesondere Gd^{3+} bevorzugt als Kontrastmittel in der MR Tomographie eingesetzt werden kann. Für die Komplexierung der Lanthanidionen haben sich sowohl offenkettige, wie z.B. DTPA (Diethylentriaminpentaessigsäure), als auch zyklische Komplexbildner, wie z.B. DOTA, bewährt. Im zweiten Fall wird das dreiwertige Gd^{3+} durch die vier Stickstoffatome und die Säurereste sehr stark komplexiert. Im Gegensatz zu den offenkettigen Komplexen ist die Stabilität der zyklischen Komplexe größer und auch weniger pH-anfällig. Das ist deshalb wichtig, weil es im Zellinneren Kompartimente mit sehr niedrigem pH (pH 5) geben kann.

Der Vorteil der Borsubstanzen für die NET liegt in dem hohen linearen Energietransfer (LET) dieser Substanzen. Es kommt leicht zum Zelltod, wenn die Borsubstanz intrazellulär vorliegt und die Spaltprodukte dort freigesetzt

werden. Der Nachteil der Borsubstanzen ist in der mangelnden Analytik zu sehen. Bor hat kein handhabbares radioaktives Isotop, die chemische Boranalyse ist wenig sensitiv, ^{11}B NMR ist möglich, aber aufwendig. Bor wird sensitiv nur über die Fissionsreaktion mit thermischen Neutronen nachgewiesen, das ist on-line in vivo nicht möglich. Von Gadolinium stehen geeignete radioaktive Isotope, einschließlich für PET, zur Verfügung. Gd hat die Ordnungszahl 64 und ist damit gegenüber dem leichten Bor röntgendicht.

Hinsichtlich der Borsubstanzen hat man sich klinisch auf zwei Substanzen konzentriert: BSH und BPA. BSH ist ein Borcluster und BPA (p-Boronophenylalanin) ist dem Tyrosin sehr ähnlich, es kann über den Transportmechanismus für aromatische Aminosäuren intrazellulär aufgenommen werden und wird bei der Behandlung von malignen Melanomen eingesetzt. Beide Substanzen werden intrazellulär aufgenommen. Ausschlaggebend für den therapeutischen Erfolg ist die Kenntnis der Pharmakokinetik, insbesondere sollten auf individueller Basis die Tumoranreicherung und die Bluthalbwertszeit bekannt sein, da nur dann eine tolerierbare Bestrahlung möglich ist, wenn die Konzentration im Blut dies erlaubt. Wegen der Kompliziertheit der Boranalytik hat man schon früh überlegt, Borsubstanzen mit geeigneten Radiodiagnostika zu verbinden. So wurde ein PET-aktives ^{18}F-BPA entwickelt [Y Mishima. Selective thermal neutron capture therapy of cancer cells using their specific metabolic activities - melanoma as prototype. Cancer Neutron Capture Therapy (Y Mishima, Ed.) Plenum Press New York 1996, 1-26].

Die Bedeutung des Bors für die Neutronen-Einfang-Therapie wurde früh erkannt, und zahlreiche Borverbindungen sind Gegenstand von Patentanmeldungen. So beschreibt WO 95/15333 Konjugate aus Oligonucleotiden und Carboranen als Wirkstoff für die NET. In dem US-Patent 5,466,679 werden Carborane an Nucleoside geknüpft für die NET beschrieben. Die US-Patentschrift 5,455,022 beschreibt Sulfidohydroborane für die NET.

Auch Porphyrine werden als Träger für Carborane verwendet, siehe US-Patent 5,654,423 und WO 95/09856. In der Europäischen Anmeldung EP 205326 werden Antikörper als Bindungspartner für Carborane für die NET genannt.

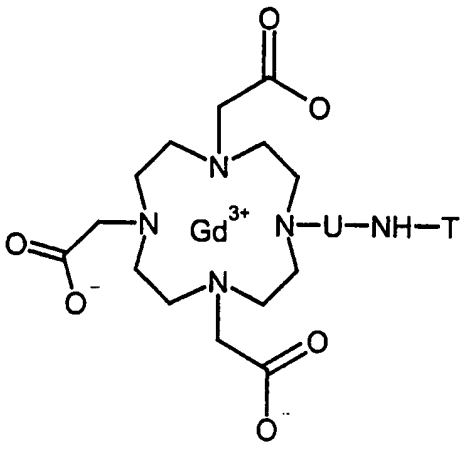
Man hat auch daran gedacht, Borsubstanzen und Gd-Komplexe in einem Molekül zu vereinen. Diese Kombination kann in zweifacher Hinsicht sinnvoll sein: sie verknüpft die therapeutischen Vorteile beider Substanzen und ermöglicht über die MR Diagnostik die Bestimmung der Pharmakokinetik, so daß der Zeitpunkt der Bestrahlung optimiert werden kann. So wurden B-Gd-Substanzen bereits beschrieben [Spielvogel & Sood. US Patent 5,286,853, Rowland et al., A new approach to the design of blood pool contrast agents. SMRM 1996; Yamamoto et al., A new synthetic method of all carboxylate-free DTPA derivatives and its application to the synthesis of Gd-carborane complex. Advances in Neutron Capture Therapy II, 436-439 (1997)]. Rowland et al. und Yamamoto et al. verwenden wie die Mehrheit der Autoren DTPA zum Komplexieren von Gd und verknüpfen BPA oder Borcluster mit dem Grundgerüst, Spielvogel & Sood beziehen sich auf die makrozyklische DOTA Struktur und benutzen eine Seitenkette zum Anheften z.B. eines Borkäfigs.

Die bisher beschriebenen Verbindungen zeigen jedoch Eigenschaften, die sie für eine Anwendung am Menschen ungeeignet machen:

- geringe Verträglichkeit
- chemische Instabilität
- Instabilität der Komplexe
- unvollständige Ausscheidung
- unzureichende Wasserlöslichkeit.

Es bestand daher weiterhin ein Bedarf an für die NET und PAT geeigneten Verbindungen.

Es wurde nun gefunden, daß überraschenderweise die erfindungsgemäßen Verbindungen der Formel I diese Nachteile nicht aufweisen:



(I),

worin

U für $-CH_2-CH(OH)-CH_2-$ oder
$-CHR-CO-NH-(CH_2)_n-CO$ mit
R in der Bedeutung eines Wasserstoffatoms oder einer Methylgruppe und
n in der Bedeutung der Ziffern 1 bis 10, und

T für einen tumorspezifischen Rest biologischen oder synthetischen Ursprungs stehen.

Vorzugsweise steht n für die Ziffer 1.

Als bevorzugter Rest biologischen Ursprungs steht T für ein(e) um eine Amino- oder Hydroxylgruppe vermindertes Hormon, Vitamin, Polysaccharid, Steroid, Lipid, Fettsäure, Peptid, Lektin, Nukleotid, Nukleosid, Antibiotikum, Antitumormittel, Porphyrin und biogenes Amin oder deren Derivate.

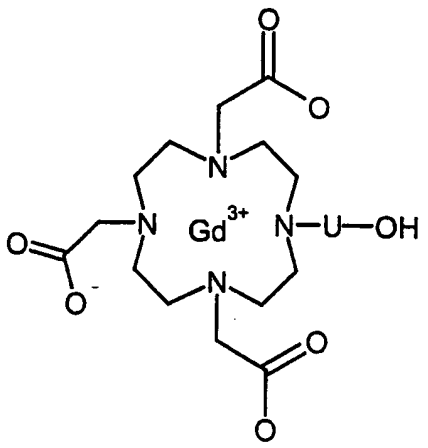
Als bevorzugter Rest synthetischen Ursprungs steht T für ein um ein Wasserstoffatom, eine Amino- oder Hydroxylgruppe verminderten(s) Farbstoff, Antibiotikum, Antitumormittel, DNA-Interkalator, synthetisches Steroid und Phenylboronsäure oder deren Derivate.

Besonders bevorzugte Reste T biologischen Ursprungs sind Progesteron, Estradiol, Biotin, Folsäure, Liponsäure, Ascorbinsäure, Vitamin K, Vitamin B12, Maltotetraose, Lewis-X, Chitosan, Cholesterin, Cholsäure, Phosphatidyl-bispalmitoyl-glycerin, Stearinsäure, Palmitinsäure, Somatostatin, VEGF,

Doxorubicin, Adriamycin, Bleomycin, Taxol, Dientrien-Antibiotikum, Epothilon, Hämatoporphyrin, Mesoporphyrin, Spermidin, Tryptamin und Histamin.

Als bevorzugter Rest synthetischen Ursprungs steht T für Methylblau, Acridin-Orange, Texaphyrin, Cephalosporin, Carbacyclin, Cis-Platinderivate, Cyclophosphamid, Acridine, Psoralene, Cyproteronacetat, RU-486, Phenylalanin-4-boronsäure, Borcluster und Carboran.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen der allgemeinen Formel I werden durch Umsetzung von Verbindungen der allgemeinen Formel II

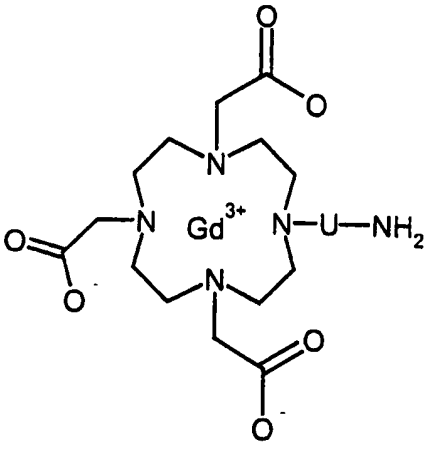


(II),

mit Aminen der allgemeinen Formel (III)

$$H_2N\text{-}T \qquad (III)$$

unter den z.B. in der DE 196 52 386 beschriebenen Reaktionsbedingungen oder durch Umsetzung von Verbindungen der allgemeinen Formel IV



(IV),

mit Verbindungen der allgemeinen Formel V

X-T (V),

worin X für eine Fluchtgruppe wie z.B. Hydroxyl, Chlorid, Bromid, Iodid, Tosylat, Mesylat und Triflat steht, erhalten. Die Umsetzung erfolgt im Falle, daß X für eine Hydroxylgruppe steht - wobei die OH-gruppe an eine in T enthaltene Carbonylgruppe gebunden ist – nach dem Fachmann bekannten Verfahren der Herstellung von Carbonsäureamiden wie sie z.B. beschrieben sind in

- Aktivierung von Carbonsäuren. Übersicht in Houben-Weyl, Methoden der Organischen Chemie, Band XV/2, Georg Thieme Verlag Stuttgart.
- Aktivierung mit Carbodiimiden. R. Schwyzer u. H. Kappler, Helv. 46:1550 (1963)
- E. Wünsch et al., Ber. 100:173 (1967)
- Aktivierung mit Carbodiimiden/Hydroxysuccinimid: J. Am. Chem. Soc. 86: 1839 (1964) sowie J. Org. Chem. 53: 3583 (1988). Synthesis 453 (1972).
- Anhydridmethode, 2-Ethoxy-1-ethoxycarbonyl-1,2-dihydrochinolin: B. Belleau et al., J. Am. Chem. Soc., 90:1651 (1986), H. Kunz et al., Int. J. Pept. Prot. Res., 26:493 (1985) und J.R. Voughn, Am. Soc. 73:3547 (1951).

- Imidazolin-Methode: B.F. Gisin, R.B. Menifield, D.C. Tosteon, Am. Soc. 91:2691 (1969).
- Säurechlorid-Methoden, Thionylchlorid: Helv., 42:1653 (1959).

- Oxalylchlorid: J. Org. Chem., 29:843 (1964).

Im Falle der Umsetzung mit Verbindungen der allgemeinen Formel V worin X für Chlorid, Bromid, Iodid, Tosylat, Mesylat oder Triflat steht, erfolgt diese ebenfalls nach dem Fachmann bekannten Methoden s. z.B. Houben-Weyl, Methoden der organischen Chemie, Band XI/1, Georg Thieme Verlag.

Steht T für einen Acridin- oder Acridinderivat-Rest und X für ein Chlorid, so erfolgt die Umsetzung vorzugsweise wie in „The Chemistry of Heterocyclic Compounds" Vol. 9, Editor R.M. Acheson, John Wiles and sons, 1973 beschrieben.

Die für die oben beschriebenen Umsetzungen benötigten Ausgangssubstanzen sind literaturbekannt bzw. können analog literaturbekannten Methoden hergestellt werden.
II , s. DE 196 52 387,
IV s. DE 44 450 76,
III und V sind käuflich erwerbbar bzw. literaturbekannt.

Die Herstellung der erfindungsgemäßen pharmazeutischen Mittel erfolgt ebenfalls in an sich bekannter Weise, indem man die erfindungsgemäßen Komplexverbindungen – gegebenenfalls unter Zugabe der in der Galenik üblichen Zusätze – in wäßrigem Medium suspendiert oder löst und anschließend die Suspension oder Lösung gegebenenfalls sterilisiert. Geeignete Zusätze sind beispielsweise physiologisch unbedenkliche Puffer (wie zum Beispiel Tromethamin), Zusätze von Komplexbildnern oder Komplexen (wie zum Beispiel von Diethylentriaminpentaessigsäure oder

die korrespondierenden makrozyclischen Ca-Komplexe) oder – falls erforderlich – Elektrolyte wie zum Beispiel Natriumchlorid oder – falls erforderlich – Antioxidantien wie zum Beispiel Ascorbinsäure.

Sind für die enterale Verabreichung oder andere Zwecke Suspensionen oder Lösungen der erfindungsgemäßen Mittel in Wasser oder physiologischer Salzlösung erwünscht, werden sie mit einem oder mehreren in der Galenik üblichen Hilfsstoff(en) [zum Beispiel Methylcellulose, Lactose, Mannit] und/oder Tensid(en) [zum Beispiel Lecithine, Tween®, Myrj®] und/oder Aromastoff(en) zur Geschmackskorrektur [zum Beispiel ätherischen Ölen] gemischt. Prinzipiell ist es auch möglich, die erfindungsgemäßen pharmazeutischen Mittel auch ohne Isolierung der Komplexsalze herzustellen. In jedem Fall muß besondere Sorgfalt darauf verwendet werden, die Chelatbildung so vorzunehmen, daß die erfindungsgemäßen Salze und Salzlösungen praktisch frei sind von nicht komplexierten toxisch wirkenden Metallionen.

Dies kann beispielsweise mit Hilfe von Farbindikatoren wie Xylenolorange durch Kontrolltitrationen während des Herstellungsprozesses gewährleistet werden. Die Erfindung betrifft daher auch Verfahren zur Herstellung der Komplexverbindungen und ihrer Salze. Als letzte Sicherheit bleibt eine Reinigung des isolierten Komplexsalzes.

Die erfindungsgemäßen pharmazeutischen Mittel enthalten vorzugsweise 1µMol-1Mol/l des Gadoliniumkomplexes und werden in der Regel in Mengen von 0,0001-10mMol/kg dosiert. Sie sind zur enteralen und parenteralen Applikation bestimmt.

Die erfindungsgemäßen Mittel erfüllen die vielfältigen Voraussetzungen für die Eignung als Mittel für die Neutroneneinfangtherapie und Photonenaktivierungstherapie. So zeigen sie die hohe Wirksamkeit, die notwendig ist, um den Körper mit möglichst geringen Mengen an Fremdstoffen zu belasten, und die gute

Verträglichkeit, die notwendig ist, um den nichtinvasiven Charakter der Untersuchungen aufrechtzuerhalten.

Die gute Wasserlöslichkeit und geringe Osmolalität der erfindungsgemäßen Mittel erlaubt es, hochkonzentrierte Lösungen herzustellen, damit die

Volumenbelastung des Kreislaufs in vertretbare Grenzen zu halten und die Verdünnung durch die Körperflüssigkeit auszugleichen ist. Weiterhin weisen die erfindungsgemäßen Mittel nicht nur eine hohe Stabilität in-vitro auf, sondern auch eine überraschende hohe Stabilität in-vivo, so daß eine Freigabe oder ein Austausch der in den Komplexen nicht kovalent gebundenen – an sich giftigen – Gadolinium-Ionen innerhalb der Zeit, in der die neuen therapeutischen Mittel vollständig wieder ausgeschieden werden, nur äußerst langsam erfolgt.

Die nachfolgenden Beispiele dienen zur Erläuterung des Erfindungsgegenstands.

Beispiel 1

Gadolinium-Komplex von 10-[3-(2-Methoxy-6-chlor-acridin-9-yl)-2-hydroxypropyl]-1,4,7 tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan (als Hydrochlorid)

10 g (35,95 mmol) 6,9-Dichlor-2-methoxyacridin werden zu 40 g (425 mmol) Phenol gegeben und 1 Stunde auf 100°C erwärmt. Zu der so hergestellten Schmelze gibt man eine Lösung bestehend aus 10,31 g (17,97 mmol) 10-[3-Amino-2-hydroxy-propyl]-1,4,7,-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan-Gadoliniumkomplex, 3 g Lithiumchlorid in 60 ml Dimethylsulfoxid zu und rührt 5 Stunden bei 100°C. Man kühlt auf Raumtemperatur ab und gibt die Lösung in eine Mischung aus 1000 ml Aceton/300 ml Diethylether. Man rührt 30 Minuten, filtriert den ausgefallenen Feststoff ab und chromatographiert an Kieselgel (Laufmittel: Methanol/25 % aqu. Ammoniak = 30:1). Die Fraktionen werden eingedampft, der Rückstand in Wasser gelöst und der pH-Wert durch Zugabe von 1 N aqu. Salzsäure auf pH 7,2 gebracht. Anschließend wird gefriergetrocknet.

Ausbeute: 10,87 g (71 % d. Th.) eines gelben amorphen Feststoffs

Wassergehalt: 8,4 %

Elementaranalyse (berechnet auf wasserfreie Substanz):

ber.:	C 43,71	H 4,61	N 9,87	Gd 18,46	Cl 8,32
gef.:	C 43,50	H 4,78	N 9,72	Gd 18,19	Cl 8,38

Beispiel 2

Folsäureamidkonjugat von Gadoliniumkomplex des 10-[3-Amino-2-hydroxypropyl]-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

3,34 g (7,57 mmol) Folsäure werden über Nacht bei Raumtemperatur in 70 ml Dimethylsulfoxid gelöst. Man kühlt auf 15°C ab und gibt 1,480 g (7,18 mmol) Dicyclohexylcarbodiimid und 0,87 g (7,56 mmol) N-Hydroxysuccinimid zu. Es wird 12 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die so erhaltene Anhydridlösung wird im folgenden eingesetzt. Hierzu löst man 2,472 g (4,31 mmol) 10-[3-Amino-2-hydroxypropyl]-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan-Gadoliniumkomplex und 650 mg (15,33 mmol) Lithiumchlorid in 25 ml Dimethylsulfoxid und gibt die oben hergestellte Lösung zu. Außerdem gibt man noch 2,4 ml (29,75 mmol) Pyridin zu und rührt über Nacht bei Raumtemperatur. Die Reaktionslösung wird in eine Mischung aus 1000 ml Diethylether/200 ml Aceton gegeben und 30 Minuten gerührt. Der ausgefallene Feststoff wird abfiltriert und in 50 ml Wasser gelöst. Der pH-Wert wird durch Zugabe von Eisessig auf pH 4 gestellt. Man filtriert vom ungelösten Harnstoff ab und lyophilysiert das Eluat. Das Lyophylisat wird in wenig Wasser gelöst und an RP-18 chromatographiert (Gradient aus Wasser/Acetonitril/Tetrahydrofuran).
Ausbeute: 4,30 g (72 % d. Th.) eines gelblichen Feststoffs
Wassergehalt: 7,5 %

Analyse (bezogen auf wasserfreie Substanz):

ber.:	C 43,37	H 4,75	N 16,86	Gd 15,77
gef.:	C 43,11	H 4,91	N 16,70	Gd 15,51

Beispiel 3

Amid-Konjugat von 3-Aminophenylboronsäure mit dem Gadoliniumkomplex von 1-[1-Methyl-2-oxo-3-aza-4-carboxy-butyl]-1,4,7,10-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan (als Natrium-Salz)

1 g (1,588 mmol) des Gadoliniumkomplexes 1-[1-Methyl-2-oxo-3-aza-4-carboxy-butyl]-4,7,10-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan,

134,6 mg (3,176 mmol) Lithiumchlorid und 365,8 mg (3,176 mmol) N-Hydroxysuccinimid werden in 10 ml Dimethylsulfoxid unter leichtem Erwärmen gelöst und anschließend auf 10°C abgekühlt. Man gibt bei 10°C 393 mg (1,906 mmol) Dicyclohexylcarbodiimid zu und rührt 45 Minuten bei Raumtemperatur. Zu der so hergestellten N-Hydroxysuccinimidesterlösung gibt man 246 mg (1,588 mmol) 3-Aminophenylboronsäure-Hydrat, gelöst in 5 ml Dimethylsulfoxid zu, anschließend 321,4 mg (3,176 mmol) Triethylamin. Man rührt über Nacht bei Raumtemperatur. Zu der erhaltenen Suspension tropft man 200 ml Aceton, filtriert den Niederschlag ab und wäscht ihn 2 mal mit etwas Aceton nach. Der Rückstand wird säulenchromatographisch gereinigt (RP-18/Laufmittel: Gradient aus Wasser/Acetonitril/Tetrahydrofuran). Das so erhaltene Produkt wird in Wasser gelöst und der pH-Wert mit aqu. 1 N Natronlauge auf pH 7,4 gestellt und anschließend gefriergetrocknet.

Ausbeute: 1,04 g (85 % d. Th.) farbloses, flockiges Pulver

Wassergehalt: 6,4 %

Elementaranalyse (berechnet auf wasserfreie Substanz):

ber.:	C 38,96	H 4,58	N 10,91Gd 20,41	B 1,40	Na 2,98
gef.:	C 38,75	H 4,73	N 10,75Gd 20,20	B 1,36	Na 2,71

Beispiel 4

Herstellung der Lösung

Eine Menge der Substanz nach Beispiel 2 wurde so abgewogen, daß sich nach Aufnahme mit 5 ml physiologischer NaCl-Lösung eine molare Konzentration von 50 mmol/l ergab. Die Lösung wurde auf pH 7 eingestellt und unter der Sterilbank in zuvor hitzesterilisierte Gefäße durch 0,2 µm Filter sterilfiltriert. Die Gd-Konzentration wurde über ICP-AES zu 49,8 mmol Gd/l bestimmt.

Beispiel 5

U937 Zellen (histiozytische Lymphoma-Zellen humanen Ursprungs) wurden unter Normalbedingungen angezogen. Am Tag der Bestrahlung wurden aus einer Zellsuspension Zellen entnommen und auf die Meßproben aufgeteilt, so daß alle Proben dieselbe Zellzahl enthielten. Zu den Proben wurde eine nach Beispiel 4 hergestellte Lösung (Stammlösung 50 mmol/l) pipettiert. Danach wurden die Zell-Lösungen eine Stunde bei 37 °C im Brutschrank inkubiert. Im Anschluß daran wurden die Lösungen in Quarzröhrchen mit thermischen Neutronen 1 h bestrahlt (Forschungsreaktor Hahn-Meitner-Institut Berlin, Energie 0,009 eV, Fluß 1 10^9 n cm^{-2} s^{-1}). Nach Bestrahlung wurden die Zellen gewaschen in Normalmedium überführt und die Zelldichte über einen Zeitraum von ca. 200 h gemessen (Casy1).

Aus der Auftragung der Zelldichte als Funktion der Zeit für die untersuchten Proben geht, wie man der Figur 1 entnimmt, hervor, daß die unbestrahlten Kontrollen sich in ihrer Wachstumsgeschwindigkeit nicht unterscheiden. Die bestrahlten Proben zeigen verlangsamtes Zellwachstum derart, daß die reine Bestrahlung nur eine geringe Verlangsamung aufweist, die Zellen die in Anwesenheit der erfindungsgemäßen Verbindung aus Beispiel 4 bestrahlt wurden, aber deutlich langsamer wachsen, weil sie in ihrer Zellteilungsrate durch die Neutronen-Einfang-Reaktion im Wachstum geschädigt sind.

Beispiel 6

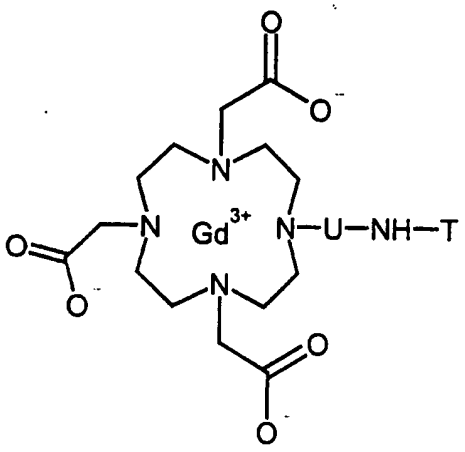
Aus einer entsprechend Beispiel 4 hergestellten pharmazeutischen Lösung von Beispiel 3 (Bor-Gd-Konjugat) wurde zu den die U937 Zellen enthaltenden Proben soviel dazupipettiert, daß sich 2 und 5 mmolare Zell-Lösungen ergaben. Analog Beispiel 5 wurden die Zellen in Anwesenheit der Lösungen bestrahlt, im Anschluß daran gewaschen und über einen Zeitraum von ca. 200 h die

Zellproliferation verfolgt, in dem in regelmäßigen Zeitabständen die Zelldichte gemessen wurde.

Wie in Beispiel 5 sieht man , daß die Bestrahlung in Anwesenheit der Substanz die Zellproliferation konzentrationsabhängig hemmt (Figur 2).

Patentansprüche

1. Verwendung von mindestens einer physiologisch verträglichen Verbindung der allgemeinen Formel I



(I),

worin

U für $-CH_2-CH(OH)-CH_2-$ oder
$-CHR-CO-NH-(CH_2)_n-CO$ mit
R in der Bedeutung eines Wasserstoffatoms oder einer Methylgruppe und
n in der Bedeutung der Ziffern 1 bis 10, und

T für einen tumorspezifischen Rest biologischen oder synthetischen Ursprungs stehen,

für die Herstellung von Präparaten für die Neutroneneinfang- und Photonenaktivierungstherapie.

2. Verwendung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß n für die Ziffer 1 steht.

3. Verwendung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß T für ein(e) um eine Amino- oder Hydroxylgruppe vermindertes Hormon, Vitamin, Polysaccharid, Steroid, Lipid, Fettsäure, Peptid, Lektin, Nukleotid, Nukleosid, Antibiotikum, Antitumormittel, Porphyrinen und biogenes Amin oder deren Derivate steht.

4. Verwendung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß T für ein um ein Wasserstoffatom, eine Amino- oder Hydroxylgruppe verminderten(s)

Farbstoff, Antibiotikum, Antitumormittel, DNA-Interkalator, synthetisches Steroid und Phenylboronsäure oder deren Derivate steht.

5. Verwendung nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß T für Progesteron, Estradiol, Biotin, Folsäure, Liponsäure, Ascorbinsäure, Vitamin K, Vitamin B12, Maltotetraose, Lewis-X, Chitosan, Cholesterin, Cholsäure, Phosphatidyl-bispalmitoyl-glycerin, Stearinsäure, Palmitinsäure, Somatostatin, VEGF, Doxorubicin, Adriamycin, Bleomycin, Taxol, Dientrien-Antibiotikum, Epothilon, Hämatoporphyrin, Mesoporphyrin, Spermidin, Tryptamin und Histamin steht.

6. Verwendung nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß T für Methylblau, Acridin-Orange, Texaphyrin, Cephalosporin,, Carbacyclin, Cis-Platinderivate, Cyclophosphamid, Acridine, Psoralene, Cyproteronacetat, RU-486, Phenylalanin-4-boronsäure, Borcluster und Carboran steht.

7. Verwendung gemäß Anspruch 1 zur Behandlung von Tumoren.

8. Pharmazeutische Mittel enthaltend mindestens eine physiologisch verträgliche Verbindung der allgemeinen Formel I nach Anspruch 1, gegebenenfalls mit den in der Galenik üblichen Zusätzen.

9. Verwendung gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Zubereitungen zusätzlich ein Antitumormittel enthalten.

10. Verwendung gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß monochromatische Röntgenstrahlen verwendet werden.

11. Verwendung gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß ^{157}Gadolinium verwendet wird.

12. Gadolinium-Komplex von 10-[3-(2-Methoxy-6-chlor-acridin-9-yl)-2-hydroxypropyl]-1,4,7 tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan.

13. Folsäureamidkonjugat vom Gadoliniumkomplex des 10-[3-Amino-2-hydroxypropyl]-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan.

14. Amid-Konjugat von 3-Aminophenylboronsäure mit dem Gadoliniumkomplex von 1-[1-Methyl-2-oxo-3-aza-4-carboxy-butyl]-1,4,7,10-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan.

Fig. 1

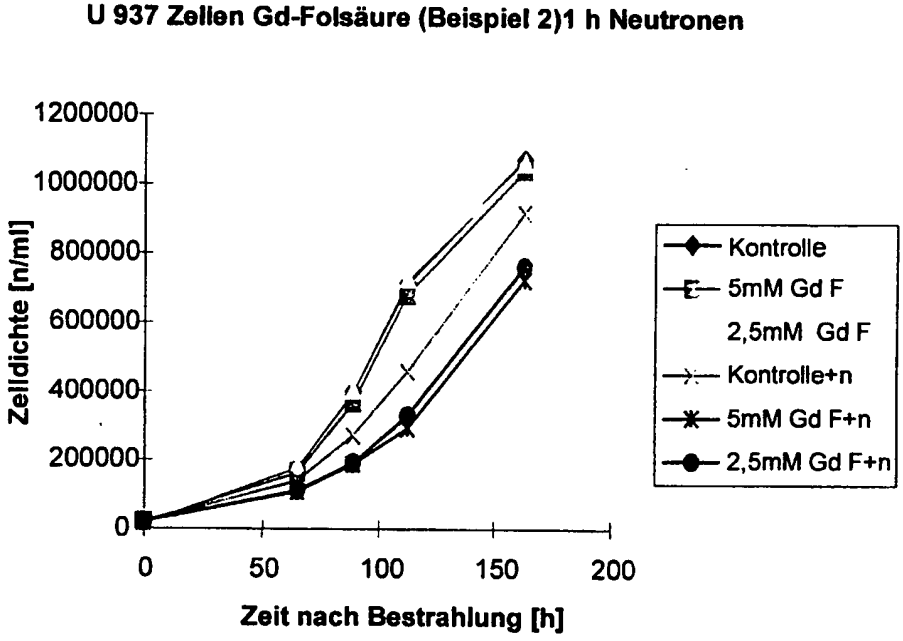
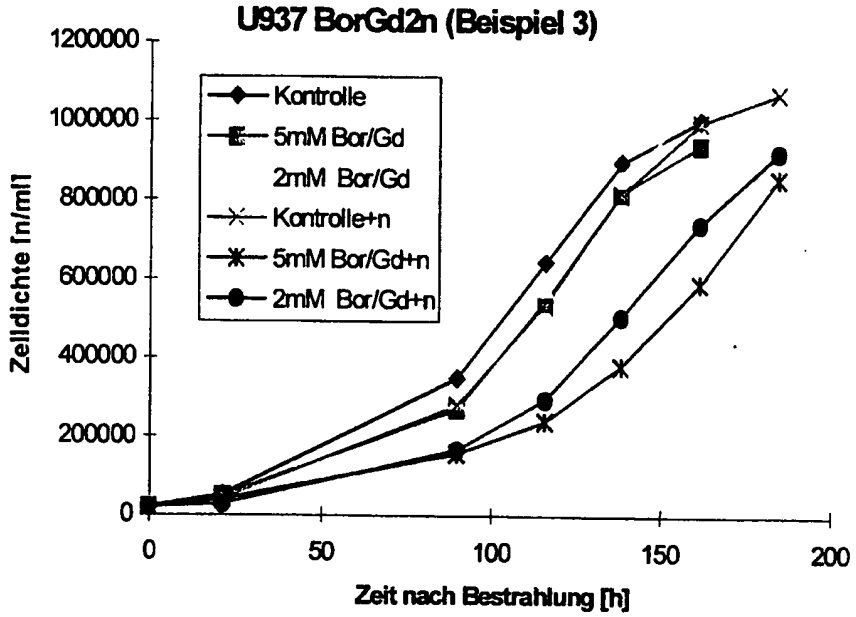

U 937 Zellen Gd-Folsäure (Beispiel 2)1 h Neutronen
Zelldichte [n/ml]
1200000
1000000
800000
600000
400000
200000
0
0
50
100
150
200
Zeit nach Bestrahlung [h]
Kontrolle
5mM Gd F
2,5mM Gd F
Kontrolle+n
5mM Gd F+n
2,5mM Gd F+n

Fig. 2


U937 BorGd2n (Beispiel 3)
Zelldichte [n/ml]
1200000
1000000
800000
600000
400000
200000
0
0
50
100
150
200
Zeit nach Bestrahlung [h]
Kontrolle
5mM Bor/Gd
2mM Bor/Gd
Kontrolle+n
5mM Bor/Gd+n
2mM Bor/Gd+n

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro

(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
10. August 2000 (10.08.2000)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 00/45857 A3

(51) Internationale Patentklassifikation[7]: A61K 41/00

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP00/00473

(22) Internationales Anmeldedatum:
21. Januar 2000 (21.01.2000)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
199 05 094.5 1. Februar 1999 (01.02.1999) DE

(71) Anmelder: SCHERING AKTIENGESELLSCHAFT [DE/DE]; Müllerstrasse 178, D-13342 Berlin (DE).

(72) Erfinder: LAWACZECK, Rüdiger; Beyschlagstrasse 8c, D-13503 Berlin (DE). PLATZEK, Johannes; Grottkauer Strasse 55, D-12621 Berlin (DE). RADÜCHEL, Bernd; Gollanczstrasse 132, D-13465 Berlin (DE).

(81) Bestimmungsstaaten *(national)*: AE, AL, AU, BA, BB, BG, BR, CA, CN, CR, CU, CZ, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KP, KR, LC, LK, LR, LS, LT, LV, MA, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, SD, SG, SI, SK, SL, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten *(regional)*: eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).

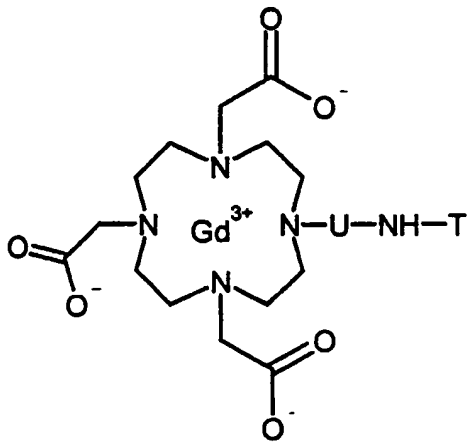
Veröffentlicht:
— *Mit internationalem Recherchenbericht.*

(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen Recherchenberichts: 5. April 2001

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: METAL MACROCYCLES FOR TWO-STEP FORMS OF RADIOTHERAPY

(54) Bezeichnung: METALLMAKROZYKLEN FÜR ZWEISCHRITT-STRAHLENTHERAPIEFORMEN



(I)

(57) Abstract: The invention relates to the use of at least one physiologically compatible compound of general formula (I), wherein U represents $-CH_2-CH(OH)-CH_2-$ or $-CHR-CO-NH-(CH_2)_n-CO$, with R meaning a hydrogen atom or a methyl group and n meaning the numbers 1 to 10, and T represents a tumour-specific radical of biological or synthetic origin, for producing preparations for neutron capture and photon activation therapy.

(57) Zusammenfassung: Es wird die Verwendung von mindestens einer physiologisch verträglichen Verbindung der allgemeinen Formel (I), worin U für $-CH_2-CH(OH)-CH_2-$ oder $-CHR-CO-NH-(CH_2)_n-CO$ mit R in der Bedeutung eines Wasserstoffatoms oder einer Methylgruppe und n in der Bedeutung der Ziffern 1 bis 10, und T für einen tumorspezifischen Rest biologischen oder synthetischen Ursprungs stehen, für die Herstellung von Präparaten für die Neutroneneinfang- und Photonenaktivierungstherapie beschrieben.

WO 00/45857 A3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

In ional Application No
PCT/EP 00/00473

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 A61K41/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)
EPO-Internal, CHEM ABS Data, EMBASE, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 91 01144 A (SANDOZ AG ;SANDOZ LTD (CH); SANDOZ AG (DE)) 7 February 1991 (1991-02-07) page 1, paragraph 1; claims page 3, paragraph 2 -page 5, paragraph 2 page 8; claims; figure IA page 7, paragraph 4 page 25, paragraph 8 -page 26, paragraph 5; claims 1,27	1-14

-/—

[X] Further documents are listed in the continuation of box C.

[X] Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
27 September 2000	07/11/2000

Name and mailing address of the ISA	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL – 2280 HV Rijswijk Tel. (+31–70) 340–2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31–70) 340–3016	Berte, M

2

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication,where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	R. LAWACZECK: "BIMODALE TUMORTHEAPIEN-PHOTONEN- UND NEUTRONENAKTIVERUNG" KLINISCHE NEURORADIOLOGIE, vol. 5, no. 1, 1995, pages 39-45, XP002148581 page 42, column 1, paragraph 3 -page 43, column 1, paragraph 2 page 43, column 2, line 1 - line 5 page 42, column 1, paragraph 4	1-14
Y	MEHTA S C ET AL: "TARGETED DRUG DELIVERY FOR BORON NEUTRON CAPTURE THERAPY" PHARMACEUTICAL RESEARCH,US,NEW YORK, NY, vol. 13, no. 3, March 1996 (1996-03), pages 344-351, XP000874361 ISSN: 0724-8741 page 345, column 1, paragraph 3 page 348, column 1 -column 2	1-14
X	MIYAMOTO M ET AL: "DESIGN AND PREPARATION OF GADOLINIUM-RESERVOIR MICROCAPSULES FOR NEUTRON-CAPTURE THERAPY BY MEANS OF THE WURSTER PROCESS" CHEMICAL AND PHARMACEUTICAL BULLETIN,JP,PHARMACEUTICAL SOCIETY OF JAPAN. TOKYO, vol. 45, no. 12, 1 December 1997 (1997-12-01), pages 2043-2050, XP000731370 ISSN: 0009-2363 abstract; table 2	1,3,5
X	WO 89 00062 A (CANCER INST BOARD) 12 January 1989 (1989-01-12) page 10, line 1 - line 8; claims 1,2,4,5,8-10	1-5,7-11
X	US 5 286 853 A (SPIELVOGEL BERNARD F ET AL) 15 February 1994 (1994-02-15) claims	1,14
X	WO 99 29302 A (SJOEBERG STEFAN ;CARLSSON JOERGEN (SE); EDWARDS KATARINA (SE)) 17 June 1999 (1999-06-17) claims	1-14

-/—

2

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

I onales Aktenzeichen
PCT/EP 00/00473

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 7 A61K41/00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 7 A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)
EPO-Internal, CHEM ABS Data, EMBASE, BIOSIS

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 91 01144 A (SANDOZ AG ;SANDOZ LTD (CH); SANDOZ AG (DE)) 7. Februar 1991 (1991-02-07) Seite 1, Absatz 1; Ansprüche Seite 3, Absatz 2 -Seite 5, Absatz 2 Seite 8; Ansprüche; Abbildung IA Seite 7, Absatz 4 Seite 25, Absatz 8 -Seite 26, Absatz 5; Ansprüche 1,27 —— -/--	1-14

[X] Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

[X] Siehe Anhang Patentfamilie

° Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :
"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist
"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist
"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden
"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist
"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche	Absendedatum des internationalen Recherchenberichts
27. September 2000	07/11/2000

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde	Bevollmächtigter Bediensteter
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL – 2280 HV Rijswijk Tel. (+31–70) 340–2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31–70) 340–3016	Berte, M

2

Formblatt PCT/ISA/210 (Blatt 2) (Juli 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

nformation on patent family members

Ir nal Application No
PCT/EP 00/00473

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)		Publication date
WO 9101144	A	07-02-1991	AT	120374 T	15-04-1995
			AU	638043 B	17-06-1993
			AU	6070990 A	22-02-1991
			CA	2032499 A	21-01-1991
			DE	69018226 D	04-05-1995
			DE	69018226 T	21-09-1995
			DK	436005 T	03-07-1995
			EP	0436005 A	10-07-1991
			ES	2070329 T	01-06-1995
			FI	101938 B	30-09-1998
			HU	56583 A	30-09-1991
			IE	67637 B	17-04-1996
			IL	95118 A	24-01-1995
			JP	4500823 T	13-02-1992
			US	5686410 A	11-11-1997
WO 8900062	A	12-01-1989	AU	2071088 A	30-01-1989
US 5286853	A	15-02-1994	WO	9406805 A	31-03-1994
WO 9929302	A	17-06-1999	SE	513149 C	17-07-2000
			AU	1793899 A	28-06-1999
			EP	1033972 A	13-09-2000
			SE	9704549 A	06-06-1999
CA 2005039	A	08-06-1991	NONE		
WO 9824775	A	11-06-1998	DE	19652386 A	10-06-1998
			AU	5556698 A	29-06-1998
			EP	0946525 A	06-10-1999
			NO	992710 A	03-06-1999
			US	6045776 A	04-04-2000
			ZA	9710930 A	08-09-1998
EP 0240990	A	14-10-1987	US	4815448 A	28-03-1989
			CA	1266133 A	20-02-1990
			DE	3771251 D	14-08-1991
			IL	81759 A	21-02-1993
			JP	2566406 B	25-12-1996
			JP	62290474 A	17-12-1987
WO 8910758	A	16-11-1989	AT	145337 T	15-12-1996
			AU	641361 B	23-09-1993
			AU	3968589 A	29-11-1989
			CA	1336272 A	11-07-1995
			DE	68927479 D	02-01-1997
			DE	68927479 T	03-04-1997
			EP	0430968 A	12-06-1991
			IL	90030 A	08-12-1995
			IL	113232 A	13-07-1997
			JP	4502755 T	21-05-1992
			US	5256532 A	26-10-1993
			US	5385822 A	31-01-1995
			US	5667764 A	16-09-1997
			US	5665328 A	09-09-1997
WO 8809152	A	01-12-1988	AT	132350 T	15-01-1996
			AU	611458 B	13-06-1991

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

information on patent family members

Int onal Application No
PCT/EP 00/00473

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 8809152 A		AU 1967788 A	21-12-1988
		DE 3854856 D	15-02-1996
		DE 3854856 T	17-10-1996
		EP 0316440 A	24-05-1989
		JP 2500174 T	25-01-1990
		JP 2785025 B	13-08-1998

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication,where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	TOKUMITSU, HIROYUKI ET AL: "Preparation of gadopentetic acid-loaded chitosan microparticles for gadolinium neutron - capture therapy of cancer by a novel emulsion-droplet coalescence technique" CHEM. PHARM. BULL. (1999), 47(6), 838-842 , XP000834009 abstract; figures	1-14
Y	JONO, KAORI ET AL: "Preparation of lecithin microcapsules by a dilution method using the Wurster process for intraarterial administration in gadolinium neutron capture therapy" CHEM. PHARM. BULL. (1999), 47(1), 54-63 , XP000801702 figures	1-14
Y	DATABASE CHEMABS 'Online! CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE, COLUMBUS, OHIO, US; MILLS, RANDELL L.: "Pharmaceuticals and apparatus based on Moessbauer isotopic resonant absorption of.gamma. emission (MIRAGE) providing diagnosis and selective tissue necrosis" retrieved from STN Database accession no. 116:37120 XP002148584 abstract & CA 2 005 039 A (USA) 8 June 1991 (1991-06-08)	1-14
Y	WO 98 24775 A (SCHERING AG) 11 June 1998 (1998-06-11) claims 1,17-19; examples 16,17	1-14
X	EP 0 240 990 A (MILLS RANDELL L) 14 October 1987 (1987-10-14) claims 1,24,26,28	1
X	WO 89 10758 A (ZYNAXIS TECHNOLOGIES INC) 16 November 1989 (1989-11-16) page 15, line 28 -page 16, line 29; claims 1,28-31	1-14
X	WO 88 09152 A (MILLS RANDELL L) 1 December 1988 (1988-12-01) page 115, line 3 - line 16; claims 1,9,19	1-14

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internales Aktenzeichen
PCT/EP 00/00473

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 7 A61K41/00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 7 A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)
EPO-Internal, CHEM ABS Data, EMBASE, BIOSIS

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 91 01144 A (SANDOZ AG ;SANDOZ LTD (CH); SANDOZ AG (DE)) 7. Februar 1991 (1991-02-07) Seite 1, Absatz 1; Ansprüche Seite 3, Absatz 2 -Seite 5, Absatz 2 Seite 8; Ansprüche; Abbildung IA Seite 7, Absatz 4 Seite 25, Absatz 8 -Seite 26, Absatz 5; Ansprüche 1,27 — -/--	1-14

[X] Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

[X] Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :
"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist
"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist
"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden
"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist
"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche	Absendedatum des internationalen Recherchenberichts
27. September 2000	07/11/2000

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde	Bevollmächtigter Bediensteter
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL – 2280 HV Rijswijk Tel. (+31–70) 340–2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31–70) 340–3016	Berte, M

2

Formblatt PCT/ISA/210 (Blatt 2) (Juli 1992)

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	R. LAWACZECK: "BIMODALE TUMORTHEAPIEN-PHOTONEN- UND NEUTRONENAKTIVERUNG" KLINISCHE NEURORADIOLOGIE, Bd. 5, Nr. 1, 1995, Seiten 39-45, XP002148581 Seite 42, Spalte 1, Absatz 3 -Seite 43, Spalte 1, Absatz 2 Seite 43, Spalte 2, Zeile 1 - Zeile 5 Seite 42, Spalte 1, Absatz 4	1-14
Y	MEHTA S C ET AL: "TARGETED DRUG DELIVERY FOR BORON NEUTRON CAPTURE THERAPY" PHARMACEUTICAL RESEARCH,US,NEW YORK, NY, Bd. 13, Nr. 3, März 1996 (1996-03), Seiten 344-351, XP000874361 ISSN: 0724-8741 Seite 345, Spalte 1, Absatz 3 Seite 348, Spalte 1 -Spalte 2	1-14
X	MIYAMOTO M ET AL: "DESIGN AND PREPARATION OF GADOLINIUM-RESERVOIR MICROCAPSULES FOR NEUTRON-CAPTURE THERAPY BY MEANS OF THE WURSTER PROCESS" CHEMICAL AND PHARMACEUTICAL BULLETIN,JP,PHARMACEUTICAL SOCIETY OF JAPAN. TOKYO, Bd. 45, Nr. 12, 1. Dezember 1997 (1997-12-01), Seiten 2043-2050, XP000731370 ISSN: 0009-2363 Zusammenfassung; Tabelle 2	1,3,5
X	WO 89 00062 A (CANCER INST BOARD) 12. Januar 1989 (1989-01-12) Seite 10, Zeile 1 - Zeile 8; Ansprüche 1,2,4,5,8-10	1-5,7-11
X	US 5 286 853 A (SPIELVOGEL BERNARD F ET AL) 15. Februar 1994 (1994-02-15) Ansprüche	1,14
X	WO 99 29302 A (SJOEBERG STEFAN ;CARLSSON JOERGEN (SE); EDWARDS KATARINA (SE)) 17. Juni 1999 (1999-06-17) Ansprüche	1-14

-/—

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	TOKUMITSU, HIROYUKI ET AL: "Preparation of gadopentetic acid-loaded chitosan microparticles for gadolinium neutron - capture therapy of cancer by a novel emulsion-droplet coalescence technique" CHEM. PHARM. BULL. (1999), 47(6), 838-842 , XP000834009 Zusammenfassung; Abbildungen	1-14
Y	JONO, KAORI ET AL: "Preparation of lecithin microcapsules by a dilution method using the Wurster process for intraarterial administration in gadolinium neutron capture therapy" CHEM. PHARM. BULL. (1999), 47(1), 54-63 , XP000801702 Abbildungen	1-14
Y	DATABASE CHEMABS 'Online! CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE, COLUMBUS, OHIO, US; MILLS, RANDELL L.: "Pharmaceuticals and apparatus based on Moessbauer isotopic resonant absorption of.gamma. emission (MIRAGE) providing diagnosis and selective tissue necrosis" retrieved from STN Database accession no. 116:37120 XP002148584 Zusammenfassung & CA 2 005 039 A (USA) 8. Juni 1991 (1991-06-08)	1-14
Y	WO 98 24775 A (SCHERING AG) 11. Juni 1998 (1998-06-11) Ansprüche 1,17-19; Beispiele 16,17	1-14
X	EP 0 240 990 A (MILLS RANDELL L) 14. Oktober 1987 (1987-10-14) Ansprüche 1,24,26,28	1
X	WO 89 10758 A (ZYNAXIS TECHNOLOGIES INC) 16. November 1989 (1989-11-16) Seite 15, Zeile 28 -Seite 16, Zeile 29; Ansprüche 1,28-31	1-14
X	WO 88 09152 A (MILLS RANDELL L) 1. Dezember 1988 (1988-12-01) Seite 115, Zeile 3 - Zeile 16; Ansprüche 1,9,19	1-14

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internes Aktenzeichen
PCT/EP 00/00473

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
WO 9101144	A	07-02-1991	AT	120374 T	15-04-1995
			AU	638043 B	17-06-1993
			AU	6070990 A	22-02-1991
			CA	2032499 A	21-01-1991
			DE	69018226 D	04-05-1995
			DE	69018226 T	21-09-1995
			DK	436005 T	03-07-1995
			EP	0436005 A	10-07-1991
			ES	2070329 T	01-06-1995
			FI	101938 B	30-09-1998
			HU	56583 A	30-09-1991
			IE	67637 B	17-04-1996
			IL	95118 A	24-01-1995
			JP	4500823 T	13-02-1992
			US	5686410 A	11-11-1997
WO 8900062	A	12-01-1989	AU	2071088 A	30-01-1989
US 5286853	A	15-02-1994	WO	9406805 A	31-03-1994
WO 9929302	A	17-06-1999	SE	513149 C	17-07-2000
			AU	1793899 A	28-06-1999
			EP	1033972 A	13-09-2000
			SE	9704549 A	06-06-1999
CA 2005039	A	08-06-1991	KEINE		
WO 9824775	A	11-06-1998	DE	19652386 A	10-06-1998
			AU	5556698 A	29-06-1998
			EP	0946525 A	06-10-1999
			NO	992710 A	03-06-1999
			US	6045776 A	04-04-2000
			ZA	9710930 A	08-09-1998
EP 0240990	A	14-10-1987	US	4815448 A	28-03-1989
			CA	1266133 A	20-02-1990
			DE	3771251 D	14-08-1991
			IL	81759 A	21-02-1993
			JP	2566406 B	25-12-1996
			JP	62290474 A	17-12-1987
WO 8910758	A	16-11-1989	AT	145337 T	15-12-1996
			AU	641361 B	23-09-1993
			AU	3968589 A	29-11-1989
			CA	1336272 A	11-07-1995
			DE	68927479 D	02-01-1997
			DE	68927479 T	03-04-1997
			EP	0430968 A	12-06-1991
			IL	90030 A	08-12-1995
			IL	113232 A	13-07-1997
			JP	4502755 T	21-05-1992
			US	5256532 A	26-10-1993
			US	5385822 A	31-01-1995
			US	5667764 A	16-09-1997
			US	5665328 A	09-09-1997
WO 8809152	A	01-12-1988	AT	132350 T	15-01-1996
			AU	611458 B	13-06-1991

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

In ...sse Aktenzeichen
PCT/EP 00/00473

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 8809152 A		AU 1967788 A	21-12-1988
		DE 3854856 D	15-02-1996
		DE 3854856 T	17-10-1996
		EP 0316440 A	24-05-1989
		JP 2500174 T	25-01-1990
		JP 2785025 B	13-08-1998

This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning Operations and is not part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.
As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.